

## 15-12 発がんにおける染色体動態異常に関する研究

主任研究者 国立がんセンター 中 釜 斉

### 研究成果の要旨

ゲノム中に存在する G-rich な反復配列が形成する DNA の 4 重鎖構造が、大腸菌内でも複製阻害を起こすことを 2-D ゲル電気泳動法により確認した。sacB assay による複製阻害の定量的評価では、d(CAGGG)反復配列を挿入したプラスミドは反復配列を含まないものに比較してより強い複製阻害を受け、プラスミドの欠落頻度が 2-4 倍に上昇した。ゲノム安定化に複製機構が重要な働きをしていることが分かった。細胞周期の G1 期チェックポイントに重要な役割を果たす p27 蛋白質は、増幅した中心体数を持つ細胞の M 期進入を抑え、染色体の安定性維持に寄与していることが示唆された。高発がん性遺伝病として知られるナイミーヘン症候群の細胞では、紫外線や DNA 鎖架橋剤による複製ストレス発生時に原因遺伝子産物 NBS1 の細胞内動態及び修復活性に異常があることが分かった。修復関連遺伝子の機能的多型と発がん性との関連では、50 遺伝子において 30 個の SNPs を同定し、このうち扁平上皮がん患者に多くみられた損傷乗越え型 REV1L 遺伝子の SNP は酵素活性を約 2 倍高めることがわかった。DNA 複製異常と染色体不安定化との関係では、酵母を用いた解析からも、核小体に存在する rDNA アレーが高密度に複製開始領域と複製終結点を含んでいることや、DNA 損傷チェックポイント制御が複製阻害による DNA 傷害を監視する場所としては最適であることが分かった。

### 研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
中 釜 斉	国立がんセンター研究所生化学部 部長	反復配列の複製阻害を介したゲノム不安定化機構
三 輪 正 直	長浜バイオ大学バイオサイエンス学部 教授	発がんにおける染色体動態、細胞周期異常に関する研究
國 仲 慎 治	熊本大学大学院医学薬学研究部 助手	分裂期キナーゼによるサイズコントロール機構とその破綻による発癌メカニズムに関する研究
小 松 賢 志	京都大学放射線生物研究センター 教授	NBS1 によるゲノム安定化機構
太 田 力	国立がんセンター研究所 室長	発がんにおける DNA 修復因子に関する研究
真 木 寿 治	奈良先端科学技術大学院大学 教授	染色体不安定性におけるチェックポイント制御の役割

### 研究報告

#### 1 研究目的

本研究は、染色体の安定性維持機構のための分子機構の包括的解明を目指し、その破綻とがん化との関連を明らかにすることを目的とした。染色体の安定性維持には、DNA 複製の制御機構、組み換え修復機構、細胞分裂の際

の種々のチェックポイント機構が複雑に絡んでいる。特に、DNA 損傷のチェックポイント機構による染色体安定化機構の解明は、内在性及び外的環境要因による DNA 損傷がもたらす複製フォークの進行阻害による染色体不安定化と、そのがん化における意義を解明する上で極めて

重要である。最終的には、染色体不安定化に関わる分子種の構造および機能異常を高感度に検出するための診断法を開発し、がんの早期診断或いは予防への応用やがんの薬物治療における新たな分子標的としての可能性についても追究していきたい。

## 2 研究成果

### (1) d(CAGGG)反復配列を有するプラスミドの大腸菌内複製阻害による複製中間体の2-D電気泳動法による解析

d(CAGGG)配列の8回或いは12回繰り返しを挿入したプラスミドを大腸菌内で複製増幅させて得られたDNA試料を2-D電気泳動法で解析すると、コントロールプラスミド(pUC19)の場合には認められない一つの特異的なスポットが観察された。スポットの強さ(量)は、反復配列をleading鎖上に導入した場合とlagging鎖上に導入した場合とで有意な差は認めなかった。スポットは2-D電気泳動法でY-arcと呼ばれる曲線上に一致して認められたことから、複製フォークが鋳型DNAのある特定の部位で停止しているが示唆された。サイズ標準として用いた1 kb ladder DNAの移動度からの外挿により、複製フォークの停止位置が反復配列の挿入部位に一致することを確認した。2-D電気泳動法による複製阻害の程度を定量的に評価することは困難であった。

### (2) Mini-Fを用いた sacB assay 法による、d(CAGGG)反復配列を有するプラスミドDNAの大腸菌内での複製阻害の定量的評価

Mini-Fプラスミドは大腸菌内でのコピー数が厳密に1コピーに制御されたプラスミドである。Mini-FプラスミドにsacB遺伝子を組み込み、sucrose培地上でsacB assayによるpositive selectionを行った。この方法でsacB遺伝子を有するプラスミドが脱落した大腸菌の割合

(loss ratio)を算出することより、プラスミドの複製阻害の程度を定量的に評価できると考えた。コントロールプラスミド(pFS, pFS8c, pFS12c)のloss ratioは0.25 - 0.27%とほぼ一定していた。sacB遺伝子における突然変異頻度(MF)は $0.4 - 0.5 \times 10^{-5}$ 前後であったことから、loss ratioにおけるMFの寄与は無視できる程度のものであった。d(CAGGG)反復配列をlagging鎖に挿入したプラスミドの野生株大腸菌におけるloss ratioは、d(CAGGG)の8回及び12回繰り返しのいずれの場合にも、対照として用いたpFSプラスミドの約1.4倍に上昇した。一方、反復配列をleading鎖に挿入したプラスミドの場合には、8回及び12回繰り返しでそれぞれ1.6倍、6.2倍と反復回数による顕著な上昇が認められた。

### (3) DNA修復酵素recA及びrecQの変異体におけるmini-F

plasmidのloss ratioへの影響

recA変異株とrecQ変異株を用いて、d(CAGGG)反復配列を有するmini-Fプラスミドのloss ratioを検討した。d(CAGGG)反復配列がlagging鎖に挿入された場合には、recA変異株及びrecQ変異株ともに対照プラスミドに比較して有意な上昇が認められ、それぞれ2.2倍(recA変異株)、2.8倍(recA)、2.3倍(recQ)、2.7倍(recQ)と野生株でのloss ratioに比較して2-3倍程度の高値を示した。一方、leading鎖に挿入された場合には、recQ変異株において8回繰り返しで2.7倍、12回繰り返しで4.3倍と対照に比較して顕著に上昇することが分かった。反復配列の鎖長による影響は、野生株との比較ではlagging鎖の場合ほどに顕著でなかった。

### (4) MYC 過剰発現神経芽細胞腫での中心体数増幅におけるp27の関与

MYCNを過剰発現する神経芽腫細胞において、p27の発現低下は $\gamma$ 線照射後に中心体数の増幅を起こす。この分子機構を解明するために、MYCNの過剰発現がなくp53も野生型を示す神経芽腫細胞株SHEP細胞にMYCNベクターを導入発現させた細胞株(SHEP/MYCN)を作成した。SHEP/MYCN細胞(MYCN細胞と略す)では空ベクターを導入したMYCN/vector細胞に比べて、10 Gyの $\gamma$ 線照射後48時間後に中心体数の有意な増加が認められた。各種タンパク質を調べたところ、細胞周期のG1チェックポイントを司っているタンパク質の一つでありサイクリン依存キナーゼを抑制するp27蛋白質がMYCN/vector細胞では増加が見られるのに反し、MYCN細胞では増加しなかった。p27の減少が中心体数の増幅を導いていることを確認するために、MYCN/SHEP細胞にp27の発現ベクターを導入したところ、中心体数の異常を示す細胞が39.9%から8.5%に減少した。サイクリンとの結合不能なp27変異体の導入では26.7%と高値を示したままであった。

### (5) p27欠損繊維芽細胞における中心体増幅

マウス胎仔繊維芽細胞(MEF)では、p27の欠失によりDNA損傷後に中心体数の増幅を起こす。上記で得られた結果を検証するために、p27<sup>-/-</sup>MEFで調べたところ、期待通り $\gamma$ 線照射後48時間で68.5%の細胞に中心体数の増幅が認められた。また、p27<sup>+/-</sup>MEFにおいても68.5%の細胞に中心体数の増幅が見られた。ヒト正常繊維芽細胞でもp27の発現低下は $\gamma$ 線照射後に中心体数の増幅を起こすことが分かった。中心体数の増幅を示す細胞では4Nや8Nより多くのDNA含量を持つ細胞は有意に増加していなかったことから、中心体数の増幅は中心小体の分裂や細胞質分裂の阻害によるものでもなく、DNA合成とは同調

せずに中心体の複製が増加したものと考えられた。

#### (6) p27 発現低下による多極分裂の誘発

中心体数の増幅は染色体の不均衡な分裂を引き起こす「多極紡錘体」をしばしば誘発する。細胞分裂をヒストン H3 のリン酸化で測定したところ、正常ヒト繊維芽細胞 NB1RBG の細胞分裂は 4.0% から  $\gamma$  線照射により 0.1% にまで低下したが、p27 の siRNA を作用させた NB1RBG 細胞では 4.2% から 3.6% と細胞分裂の有意な低下が認められず、p27 が DNA 損傷後の細胞分裂への進入を調節している可能性が示された。p27 の siRNA 処理した細胞では、中心体数増幅を伴った多極分裂細胞が多く認められ

(1.9% から 89.1%)、微小核の増加も見られた (0.4% から 22.1%)。これらの結果から、p27 が増幅した中心体数を持つ細胞の M 期進入を阻害し、染色体の不安定化を抑制する重要な役割をしていることが示唆された。

(7) がん抑制遺伝子 WARTS (WTS) 結合分子の同定

WTS の C 末端 20 アミノ酸を bait とした酵母 2 ハイブリッドアッセイにより、PDZ ドメインを含む Omi/HtrA2 セリンプロテアーゼ (以下 Omi とする) を同定した。WTS 及び Omi の全長及び各種部位欠失リコンビナント蛋白を作成し *in vitro* 結合実験を行った結果、WTS は Omi PDZ ドメインと結合すること、WTS の C 末 3 アミノ酸が必須であることを明らかにした。

#### (8) Omi による WTS 切断と細胞周期制御

Omi はプロテアーゼ活性を介して細胞死を誘導する。一方、Omi 遺伝子の一塩基変異を有する神経変性疾患のモデルマウス *mnd2* (motor neuron degeneration 2) から得られる胎性線維芽細胞は、種々の細胞死刺激に対して感受性が亢進した。この矛盾する結果は、Omi が細胞死以外の生理機能を持つことを示すものと思われる。実際、WTS/Omi-発現抑制細胞では BrdU 取り込みの亢進が確認され、WTS と Omi が S 期への進行を負に制御していることが示された。WTS を過剰発現させた細胞では G1 期の増加/S 期の減少が認められ、Omi による WTS の切断は G1/S 期制御に役割を果たしている可能性が示唆された。

#### (9) 二重鎖切断修復酵素 NBS1 によるゲノム安定化機構

NBS1 は紫外線や放射線等による DNA 損傷部位にリクルートされ NBS1 フォーカスを形成する。H2AX<sup>+/+</sup>細胞では  $\gamma$  線照射、紫外線照射のいずれでも NBS1 フォーカスが形成された。一方、H2AX<sup>-/-</sup>細胞では  $\gamma$  線照射で NBS1 フォーカスが見られなかったのに対し、紫外線照射では H2AX<sup>+/+</sup>細胞と同様にフォーカス形成が観察された。NBS1 フォーカス形成機構は細胞周期によって異なる事が予想されたために、細胞を BrdU で二重染色して実験を行ったところ、

H2AX<sup>+/+</sup>細胞では BrdU 陰性および陽性のいずれの細胞でも NBS1 フォーカスを認めたのに対して、H2AX<sup>-/-</sup>細胞では BrdU 陽性の場合にのみ NBS1 フォーカスが見られた。S 期に紫外線照射された細胞では、 $\gamma$  線照射と異なり H2AX 非依存的に NBS1 フォーカスが形成されることが判明した。さらに、NBS1 の N 末側欠損クローン及び C 末側欠損クローンを用いて紫外線照射による NBS1 フォーカス形成を比較したところ、 $\gamma$  線 10 Gy 照射では C 末側の Mre11 結合ドメイン欠失によりフォーカスが形成されたのに対して、N 末側の FHA/BRCT ドメイン欠失細胞ではフォーカスが形成されないことが確認された。一方、紫外線照射では、Mre11 結合ドメイン欠失細胞と FHA/BRCT ドメイン欠失細胞のいずれでも NBS1 フォーカスの形成が確認された。RNAi による H2AX ノックダウン後の解析では、FHA/BRCT ドメイン欠失細胞では H2AX ノックダウン後にも NBS1 フォーカスが形成されたのに対して、Mre11 結合ドメイン欠失細胞ではフォーカスが形成されなかった。これらの結果から、 $\gamma$  線による NBS1 フォーカス形成と紫外線によるフォーカス形成ではその機構が異なること、S 期で起こる H2AX 非依存的な NBS1 フォーカスは MRE11 を介して形成される事が明らかになった。

#### (10) 細胞内の DNA 鎖架橋の除去に係わる損傷修復系

未修復の DNA 鎖架橋はわずかでも細胞内に残留すると複製阻害を起こす致命的損傷につながる事が知られている。新規の細胞内 DNA 鎖架橋を検出するアッセイ系を用いて、DNA 鎖架橋剤に高感受性を示す遺伝病細胞やノックアウト細胞を用いて DNA 鎖架橋の除去能を測定した。色素性乾皮症 F 群細胞、ファンコニー貧血細胞、TLS 欠損細胞は DNA 鎖架橋の除去能に異常があるが、家族性乳癌の遺伝子 BRCA1/2 ならびに XRCC2 細胞では DNA 鎖架橋が正常に細胞内から除去されることが示された。BRCA1/2 ならびに XRCC2 は相同組換えの異常が知られていることから、DNA 鎖架橋の修復には DNA 鎖架橋除去と相同組換えの二段階が必要であり、両機構は明確に区別されて修復が進行する事が示された。

#### (11) 発がんに関わる DNA 修復遺伝子の網羅的 SNPs 解析

健康者約 20 人およびがん患者さん約 100 人から提供された末梢血からゲノム DNA を精製した。この DNA を用いて、約 200 個 (昨年度の 150 個に加えて 50 個増やした) の遺伝子の DNA 修復系遺伝子の全てのエクソン領域とイントロン-エクソン境界領域の塩基配列の解読を試みた結果、一塩基の変異を伴った多型 (一塩基多型: SNP) を多数検出した。この中にはアミノ酸に変化を与える SNPs が約 1,000 個存在した。これらの中から 80 箇所を選び出

し、肺がん患者数 1,000 名を用いた相関解析を行ったところ、肺がんの中で約 200 名を占める扁平上皮がん患者の易罹患性と相関する可能性のある SNPs として、TP53, REV1L, LIG4 の SNPs を同定することができた。REV1L の相関解析では、F257S 多型において、F/F 或いは F/S 型に比較して S/S 型では肺の扁平上皮がんにおけるオッズ比が 1.70 ( $P < 0.03$ ) と有意に高かった。膀胱がんサンプルでも同様に相関解析を行った結果、REV1L の異なる SNP が膀胱がん患者の易罹患性と相関することがわかった。

(12) 肺扁平上皮がんで見出された REV1L 遺伝子の SNP による活性変化の検証

REV1L 遺伝子は出芽酵母の REV1 遺伝子のヒトホモログであり、乗越え修復に関与することが示唆されている。REV1 遺伝子の欠損した出芽酵母は紫外線感受性となることから、REV1 が紫外線によって生じるチミンダイマーの乗越え修復に関与していることが予想されていた。そこで、REV1L 遺伝子に見出された SNP によるアミノ酸変異をもたらす蛋白質の活性を試験内反応で比較検討を試みた。昆虫細胞を用いて野生型と SNP 型の REV1L 蛋白質を大量発現させ、組換え体 REV1L 蛋白質を精製した。この際、REV1L 遺伝子に二つの異なった FLAG タグおよび HIS タグを導入することで蛋白質の精製純度を飛躍的に向上することができた。精製して得られた蛋白質を用いて活性を比較した結果、肺扁平上皮がんに偏りの見られた SNP 型の REV1L 蛋白質は野生型に比べ、約 2 倍の活性を持つことがわかった。REV1 遺伝子はチミンダイマー含め多くの障害に対してシトシン (C) を相補鎖に導入して DNA 合成を助ける働きがあることから、REV1L 活性が 2 倍に上昇する多型 (S/S 型) では損傷部位の複製の際に間違ったコピー鎖を合成する可能性が高く、その結果突然変異率を上昇させることにより高発がん性を賦与することが考えられる。

(13) 複製開始制御異常のセンサーとしての rDNA の役割

*orc2-1* 温度感受性変異株を用いて、許容温度下で増殖している場合に DNA 複製がそれぞれの染色体でどの程度完了しているかを詳細に検討した。*orc2-1* 変異株では、12 番染色体の 35 % 以上が複製途中であることが判明した。対照の 2 番染色体は 30 % が複製途中であり、細胞周期の S 期の細胞の割合と一致した。一方野生株では 12 番染色体が 46%、2 番染色体は 30% が複製途中であった。このことから、rDNA アレーが存在する 12 番染色体に特異的に複製開始制御の異常が複製完了の遅延を引き起こすことが明らかになった。この 12 番染色体に特異的な複製完了の遅延は、rDNA のコピー数を減少させることにより顕著に抑制されることが観察された。rDNA アレーは複

製開始制御異常の影響を敏感に受け、なおかつその影響は細胞周期で長時間持続することが示された。

### 3 倫理面への配慮

本研究で行う動物実験については、各研究機関および大学において定められた「動物実験に関する指針」を遵守し、実験に用いる動物も統計学的検定に必要な最小限の個体数を用いた。動物遺伝子からヒトの原因遺伝子に到達した場合や、ヒト腫瘍サンプルを用いる解析の実施に当たっては、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」を遵守し、指針適用範囲内に該当する研究計画については、各機関の遺伝子解析研究倫理審査委員会において研究計画に対する審査を受け、承認を得た上で実施した。

### 4 研究成果の刊行発表

外国語論文

1. Shibata, A., Nakagama, H., et al. *Parp-1* deficiency causes an increase of deletion mutations and insertions/rearrangements *in vivo* after treatment with an alkylating agent. *Oncogene*. 24:1328-1337, 2005.
2. Ushigome, M., Nakagama, H., et al. Up-regulation of the hnRNP A1 gene in human colorectal cancer. *Int. J. Oncol.*, 26:635-640, 2005.
3. Shiokawa, M., Nakagama, H., et al. Genetic alteration of *poly(ADP-ribose)polymerase-1* in human germ cell tumors. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 35:97-102, 2005.
4. Masutani, M., Nakagama, H., et al. Poly(ADP-ribosylation) in relation to cancer and autoimmune disease. In: *Poly-ADP-ribosylation in health and disease*, ed. by Alexander Burkle. *Cell Mol. Life Sci.*, 62(7-8):769-783, 2005.
5. Fukuda, H., Nakagama, H., et al. Unfolding of higher DNA structures formed by the d(CGG) triplet repeat by UP1 Protein. *Genes Cells*, 10:953-962, 2005.
6. Ogawa, K., Nakagama, H., et al. *Parp-1* deficiency does not enhance liver carcinogenesis induced by 2-amino-3-methylimidazo[4,5-*f*]quinoline in mice. *Cancer Lett.*, in press.
7. Gunji, A., Nakagama, H., et al. *Parp-1* deficiency does not increase the frequency of tumors in the oral cavity and esophagus of ICR/129Sv mice by 4-nitroquinoline 1-oxide, a carcinogen producing bulky adducts. *Cancer Lett.*, in press.
8. Nakagama, H., et al. Molecular mechanisms for

- maintenance of G-rich short tandem repeats capable of adopting G4 DNA structures. *Mutat. Res.*, in press.
9. Boonla, C., Miwa, M. et al. MUC1 and MUC5AC mucin expression in liver fluke-associated intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J. Gastroenterol.*, 11:4939-4946, 2005.
  10. Intapan, P.M., Miwa, M. et al. Detection of paragonimus heterotremus eggs in experimentally infected cats by a polymerase chain reaction-based method. *J. Parasitol.*, 91:195-198, 2005.
  11. Sripa, B., Miwa, M. et al. Establishment and characterization of an opisthorchiasis-associated cholangiocarcinoma cell line (KKU-100). *World J. Gastroenterol.*, 11:3392-3397, 2005.
  12. Honjo, S., Miwa, M. et al. Genetic and environmental determinants of risk for cholangiocarcinoma via *Opisthorchis viverrini* in a densely infested area in Nakhon Phanom, northeast Thailand. *Int. J. Cancer*, 10:854-860, 2005.
  13. Wongkham, C., Miwa, M. et al. Evaluation of human IgG subclass antibodies in the serodiagnosis of paragonimiasis heterotremus. *Asian Pac. J. Allergy Immunol.*, in press.
  14. Sugihara, E., Miwa, M., et al. Suppression of centrosome amplification after DNA damage depends on p27 accumulation. *Cancer Res.*, in press.
  15. Arima, Y., Kuninaka, S., et al. Transcriptional blockade induces p53-dependent apoptosis associated with translocation of p53 to mitochondria. *J. Biol. Chem.*, 280(19):19166-76, 2005.
  16. Kuninaka, S. et al. The tumor suppressor WARTS activates the Omi / HtrA2- dependent pathway of cell death. *Oncogene*, 24(34):5287-98, 2005.
  17. Chen, L., Komatsu, K., et al. Ataxia-telangiectasia-mutated dependent phosphorylation of Artemis in response to DNA damage. *Cancer Science*, 96:134-141, 2005.
  18. Cheng, W., Komatsu, K., et al. Werner syndrome protein associates with gamma H2AX in a manner that depends upon NBS1. *FEBS Letters*, 579:1350-1356, 2005.
  19. Yamamoto, K., Komatsu, K., et al. Fanconi Anemia protein FANCD2 promotes immunoglobulin gene conversion and DNA repair through a mechanism related to homologous recombination. *Mol. Cell. Biol.*, 25:34-43, 2005.
  20. Lan, Li., Komatsu, K., et al. Accumulation of Werner protein at DNA double-strand breaks in human cells. *J. Cell Sci.*, 118:4153-4162, 2005.
  21. Antoccia, A., Komatsu, K., et al. Nijmegen breakage syndrome and functions of the responsible protein, NBS1, *Genome and Disease*, in press.
  22. Matsuura, S., Komatsu, K., et al. Monoallelic BUB1B Mutations and Defective Mitotic-Spindle Checkpoint in Seven Families with Premature Chromatid Separation (PCP) Syndrome. *Amer. J. Med. Genet.*, in press.
  23. Sakiyama, T., Ohta, T., et al. Association of Amino Acid Substitution Polymorphisms in DNA Repair Genes, TP53, POLI, REV1 and LIG4, with Lung Cancer Risk. *Int. J. Cancer*, 114:730-737, 2005.
  24. Tsuyama, N., Ohta, T., et al. IL-6-induced Bcl6 variant 2 supports IL-6-dependent myeloma cell proliferation and survival through STAT3. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 337:201-208, 2005.
  25. Tachibana, M., Ohta, T., et al. Histone methyltransferases G9a and GLP form heteromeric complexes and are both crucial for methylation of euchromatin at H3-K9. *Genes Dev.*, 19:815-826, 2005.
  26. Suzuki, Y., Ohta, T., et al. A novel high-throughput (HTP) cloning strategy for site-directed designed chimeragenesis and mutation using the Gateway cloning system. *Nucleic Acids Res.*, 11, 33:e109, 1-6, 2005.
  27. Nitta, T., Ohta, T., et al. IAN Family Critically Regulates Survival and Development of T Lymphocytes. *PLoS Biol.*, 4:e103, 1-13, 2006.
  28. Padmanabhan, B., Ohta, T., et al. Structural basis for defects of keap1 activity provoked by its point mutations in lung cancer. *Mol. Cell*, 21:689-700, 2006.
  29. Yamada, D., Ohta, T., et al. Disruption of spermatogenic cell adhesion and male infertility in mice lacking TSLC1/IGSF4, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule. *Mol. Cell. Biol.*, in press.
  30. Yagi, Y., Maki, H., et al. DNA polymerases  $\eta$  and  $\kappa$  are responsible for error-free translesion DNA synthesis activity over a *cis-syn* thymine dimer in *Xenopus laevis* oocyte extracts. *DNA Repair*, 4:1252-1269, 2005.
  31. Moritoh, S., Maki, H., et al. RNAi-mediated silencing of *OsGEN-L* (*OsGEN-like*), a new member of the RAD2/XPG nuclease family, causes male sterility by defect of microspore development in rice. *Plant Cell Physiol.*, 46:699-715, 2005.
- 日本語論文  
なし